

<https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-6-22-28>

Коамплификация участков генома *Mycobacterium leprae* методом ПЦР в реальном времени: обнаружение возбудителя и возможность полуколичественной оценки бактериальной нагрузки

Вербенко Д. А. *, Карамова А. Э., Соломка В. С., Кубанов А. А., Дерябин Д. Г.

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии
Министерства здравоохранения Российской Федерации
107076, Российская Федерация, г. Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

Цель исследования. Разработка метода коамплификации однокопийных генов и повторяющихся элементов генома *Mycobacterium leprae* при анализе клинического материала от больных лепрой с оценкой клинической значимости результатов подобного исследования.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились образцы скарификатов и биоптатов кожи от больной Р. с диагнозом «А30.5 Лепра. Мультибациллярная форма. Лепроматозный тип. Активная стадия». Поиск ДНК *M. leprae* в клиническом материале проводили методом ПЦР в реальном времени (РТ-ПЦР) с использованием праймеров и гидролизуемых зондов к однокопийным видоспецифичным генам *rhoB* (кодирует β-субъединицу бактериальной РНК-полимеразы), *sodA* (кодирует фермент супероксиддисмутазу) и *mntH* (кодирует белок марганцевый транспортер), а также некодирующему многокопийному элементу генома — *RLEP*.

Результаты. С использованием различных вариантов РТ-ПЦР получен согласующийся результат о присутствии или отсутствии ДНК *M. leprae* в отдельных исследованных клинических образцах. Подтверждена высокая чувствительность ПЦР-детекции многокопийного элемента генома *RLEP* в сравнении с однокопийными генами *rhoB*, *sodA* и *mntH*, заключающаяся в уменьшении количества циклов амплификации (Ct), необходимых для превышения порогового уровня флуоресценции гидролизующихся зондов, и приводящая к максимальной интенсивности сигнала флуоресценции. При построении стандартных графиков калибровки накопления флуоресцентного сигнала к одновременно анализируемым участкам генома *M. leprae* в разведениях от 1 до 1000 продемонстрированы четкие различия результатов коамплификации в зависимости от количественного присутствия детектируемой ДНК.

Выводы. Коамплификация участков генома *M. leprae* с разной степенью копийности методом РТ-ПЦР обеспечивает эффективную детекцию ДНК возбудителя лепры в клиническом материале и формирует основу для полуколичественной оценки бактериальной нагрузки в кожных биоптатах и скарификатах.

Ключевые слова: *Mycobacterium leprae*, лепра, лабораторная диагностика, РТ-ПЦР, *sodA*, *mntH*, *rhoB*, *RLEP*

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Финансирование: исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ (Государственное задание № 056-00015-18-00 на 2018 год и плановый период 2019 и 2020 гг.).

Для цитирования: Вербенко Д. А., Карамова А. Э., Соломка В. С., Кубанов А. А., Дерябин Д. Г. Коамплификация участков генома *Mycobacterium leprae* методом ПЦР в реальном времени: обнаружение возбудителя и возможность полуколичественной оценки бактериальной нагрузки. Вестник дерматологии и венерологии. 2019;95(6):22–28. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-6-22-28>

Coamplification of *Mycobacterium leprae* genome sections by real-time PCR: Detection of the pathogen and the possibility of a semi-quantitative assessment of the bacterial load

Dmitry A. Verbenko*, Arfenya E. Karamova, Victoria S. Solomka, Alexey A. Kubanov, Dmitry G. Deryabin

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russian Federation

Aim. To develop a method for coamplification of single-copy genes and repetitive elements of the *Mycobacterium leprae* genome in the analysis of clinical material from leprosy patients with an assessment of the clinical significance of the study results.

Materials and methods. Skin scarification and biopsy samples from patient R. with a diagnosis of “A30.5 Leprosy. Multibacillary form. Lepromatous type. Active stage” were used as empirical material for the study. A search for *M. leprae* DNA in the clinical material was performed by the method of real-time PCR (RT-PCR) using primers and hydrolysis probes for the single-copy species-specific genes *rpoB* (encodes the β -subunit of bacterial RNA polymerase), *sodA* (encodes the superoxide dismutase enzyme) and *mntH* (encodes the manganese transport protein), as well as for *RLEP* — the non-coding repetitive element of the genome.

Results. Using various RT-PCR assays, consistent results were obtained concerning the presence or absence of *M. leprae* DNA in the studied clinical samples. The high sensitivity of PCR was confirmed for the detection of the repetitive element *RLEP* compared to the single-copy genes *rpoB*, *sodA* and *mntH*, which consists in reducing the number of amplification cycles (Ct) needed for exceeding the threshold fluorescence value of hydrolysis probes and leading to the maximum intensity of the fluorescence signal. When constructing standard graphs for calibrating the accumulation of a fluorescent signal for simultaneously analyzed portions of the *M. leprae* genome in dilutions from 1 to 1,000, significant differences in the results of co-amplification were noted depending on the quantitative presence of the DNA being detected.

Conclusion. Coamplification of *M. leprae* genome sections with varying degrees of copy number variation by the RT-PCR method provides for effective detection of the *M. leprae* DNA in clinical material and forms a basis for a quantitative assessment of the bacterial load in skin scarification and biopsy samples.

Keywords: *Mycobacterium leprae*, leprosy, laboratory diagnostics, RT-PCR, *sodA*, *mntH*, *rpoB*, *RLEP*

Conflict of interest: the authors state that there is no potential conflict of interest requiring disclosure in this article.

Funding: the study was carried out under the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (State task No. 056-00015-18-00 for 2018, the planning period 2019 and 2020).

For citation: Verbenko D. A., Karamova A. E., Solomka V. S., Kubanov A. A., Deryabin D. G. Coamplification of *Mycobacterium leprae* genome sections by real-time PCR: Detection of the pathogen and the possibility of a semi-quantitative assessment of the bacterial load. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2019;95(6):22–28.
<https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-6-22-28>

Введение

Лепра (болезнь Гансена) — медленно развивающийся хронический гранулематоз, вызываемый бактериями *Mycobacterium leprae* и ведущий к глубоким поражениям кожи, периферической нервной системы, иногда передней камеры глаза, верхних дыхательных путей выше гортани, яичек, а также кистей и стоп [1–4]. В зависимости от особенностей клинического течения в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) выделяют две формы лепры: туберкулоидную (А30.1) и лепроматозную (А30.5) с тремя промежуточными стадиями: пограничной туберкулоидной (А30.2), пограничной (А30.3) и пограничной лепроматозной (А30.6) [3]. В соответствии с рекомендациями ВОЗ в зависимости от количества поражений кожи, бактериоскопического индекса и выраженности поражения нервных стволов случаи лепры принято дополнительно подразделять на олиго- и мультибациллярные [4].

Несмотря на многолетнюю историю исследования этого заболевания, диагностика лепры по-прежнему в значительной степени основывается на так называемых ключевых клинических признаках, что эффективно только при наличии развернутой картины заболевания и не позволяет проводить его раннюю диагностику [1, 5]. Являющийся базовым в классической лабораторной диагностике микроскопический метод, ориентированный на обнаружение кислотоустойчивых бактерий после окраски по Цилю — Нильсену с расчетом «бактериоскопического индекса» (БИН), в настоящее время подвергается справедливой критике, так как не позволяет дифференцировать *M. leprae* от других представителей рода *Mycobacterium*, а также требует присутствия искомого микроорганизма в достаточно высоком титре (от 10⁴ клеток на 1 грамм ткани и более) [5]. Не оправдал своих ожиданий и серологический анализ, основанный на обнаружении специфических антигенов *M. leprae*: фенольного гликолипида 1 (PGL-1), его синтетического дисахарида NDO-BSA, диагностического антигена NDO-LID и природного дисахарида лепры IDRI. В частности, опыт его использования позволил обнаружить не более 40 % случаев олигобациллярной лепры, что объясняется связью уровня антител с интенсивностью воздействия патогена на хозяина [6–8].

Поскольку *M. leprae* являются некультивируемыми и не могут быть выращены на искусственных питательных средах, единственной группой лабораторных технологий, обеспечивающих чувствительное и специфическое выявление данного микроорганизма как условия постановки обоснованного клинического диагноза, являются методы амплификации нуклеиновых кислот, в частности полимеразная цепная реакция (ПЦР) [9–14]. В ее основу положено обнаружение видоспецифичных (отсутствующих у других представителей рода *Mycobacterium*) последовательностей ДНК, относящихся к однокопийным (*sodA*) или многокопийным (*16S rRNA*) генам. Другой известной «мишенью» для ПЦР являются некодирующие повторяющиеся элементы — *RLEP*, присутствующие в геноме *M. leprae* в количестве нескольких десятков копий. В этой связи эффективность ПЦР с использованием *RLEP* превосходит таковую при амплификации однокопийных генов [14] и достигает 73 % даже у больных лепрой с нулевым бактериоскопическим индексом [15].

Дальнейшее развитие метода связано с разработкой мультиплексных вариантов ПЦР, на основе

одновременной амплификации нескольких видоспецифичных участков генома *M. leprae*, позволяющих повысить надежность обнаружения патогена в клинических образцах, а также решить дополнительные аналитические задачи, в частности связанные с оценкой бактериальной обсемененности пораженных тканей в динамике лечения. В этой связи целью настоящего исследования явилась разработка метода коамплификации однокопийных генов и повторяющихся элементов генома *M. leprae* при анализе клинического материала от больных лепрой с оценкой клинической значимости результатов подобного исследования.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы скарификатов кожи, носовой слизи и кожных биоптатов, полученные от пациентки Р., 1967 г. р., жительницы Астраханской области, проходящей лечение на базе Сергиево-Посадского филиала ГНЦДК Минздрава РФ. Диагноз «А30.5 Лепра. Мультибациллярная форма. Лепроматозный тип. Активная стадия», основанный на данных клинического осмотра и результатах бактериоскопического исследования, был первоначально поставлен в ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России 25.09.2015.

Образцы клинического материала гомогенизировали с использованием автоматической шаровой мельницы TissueLyser II (Qiagen, Германия), после чего выделение ДНК проводили с использованием набора «Проба-НК» («ДНК-технология», Россия) согласно протоколу производителя. Концентрацию полученных препаратов ДНК анализировали на спектрофотометре NanoVue 2000 (General Electric, Франция), выражая величину нг/мкл.

Для обнаружения генетического материала *M. leprae*, включающего однокопийные гены *sodA* (кодирует фермент супероксиддисмутазу) и *mntH* (кодирует белок марганцевый транспортер), а также некодирующий многокопийный элемент генома — *RLEP*, использовали оригинальные праймеры и гидролизующиеся зонды, последовательности которых приведены в таблице 1. Для анализа однокопийного гена *rpoB* (кодирует β-субъединицу бактериальной РНК-полимеразы) использовали коммерчески доступный набор Leprosy Genesiq Standard kit (Genesiq, Великобритания).

Исследование методом ПЦР в реальном времени (РТ-ПЦР) проводили с использованием прибора StepOne5 (Applied Biosystems, США). Амплификацию проводили по программе, включающей плавление ДНК и активацию полимеразы в течение 5 минут и последующими 40 циклами, включающими отжиг праймеров при 60 °С (с одновременной детекцией флуоресценции) в течение минуты и плавление смеси при 95 °С в течение 15 секунд. Все серии экспериментов проводили в присутствии отрицательного контроля (содержащие деионизированную воду вместо ДНК), а также положительного контроля для повторяющегося участка генома лепры *RLEP*, содержащего искусственно синтезированный эквивалент количества 1000 копий анализируемого участка ДНК. Считывание флуоресценции проводилось для проб *RLEP* и *rpoB* по каналу FAM, для проб *sodA* и *mntH* — по каналу VIC. Анализ результатов РТ-ПЦР проводили одновременно по каналам VIC и FAM, внося в анализируемые пробы по одной из смесей праймеров и гидролизующихся проб с каждым красителем.

Таблица 1. Последовательности праймеров и флуоресцентных зондов, использованных для выявления ДНК *M. leprae* методом ПЦР в реальном времени
 Table 1. The sequence of primers and fluorescent probes used to detect *M. leprae* DNA by real-time PCR

Целевые гены и элементы генома	Праймеры и зонды*	Последовательность 5'–3'
<i>RLEP</i>	1	GCAGCAGTATCGTGTAGTGAA
	2	CGCTAGAAGGTTGCCGTAT
	3	FAM-CGCGGACGGCCGGATCATCGA-BHQ1
<i>mntH</i>	1	GCTTACGTCCAGTTTCTTCGT
	2	CCAGCAGTACGCTTTCGGTT
	3	VIC-CGACGCCCTACCCGAAGACAT-BHQ1
<i>sodA</i>	1	ACGTCAACCACTCCATCTGGT
	2	CGTTTCATCAATGTCAGTGGCTA
	3	VIC-CCTCTCTCCGAACGGTGGCGAT-BHQ1

Примечание: * Обозначения: 1 — прямой праймер, 2 — обратный праймер, 3 — гидролизующийся зонд.
 Note: * Designations: 1 — forward primer, 2 — reverse primer, 3 — hydrolysis probe.

Построение стандартных графиков калибровки накопления флуоресцентного сигнала гидролизующихся зондов к одновременно анализируемым участкам генома *M. leprae* проведено при использовании разведений от 1000 до 1.

Результаты и обсуждение

При анализе восьми клинических образцов генетический материал *M. leprae* обнаружен в трех из них:

двух скарификатах и одном кожном биоптате. Типичные графики изменения интенсивности флуоресцентного сигнала в ходе проведения РТ-ПЦР представлены на рисунке 1. Результаты ПЦР в каждой серии экспериментов охарактеризованы значением *Ct* (англ. threshold cycle) — величиной цикла, на котором кривая накопления флуоресцентного сигнала начинает превышать пороговый уровень, автоматически рассчитываемый

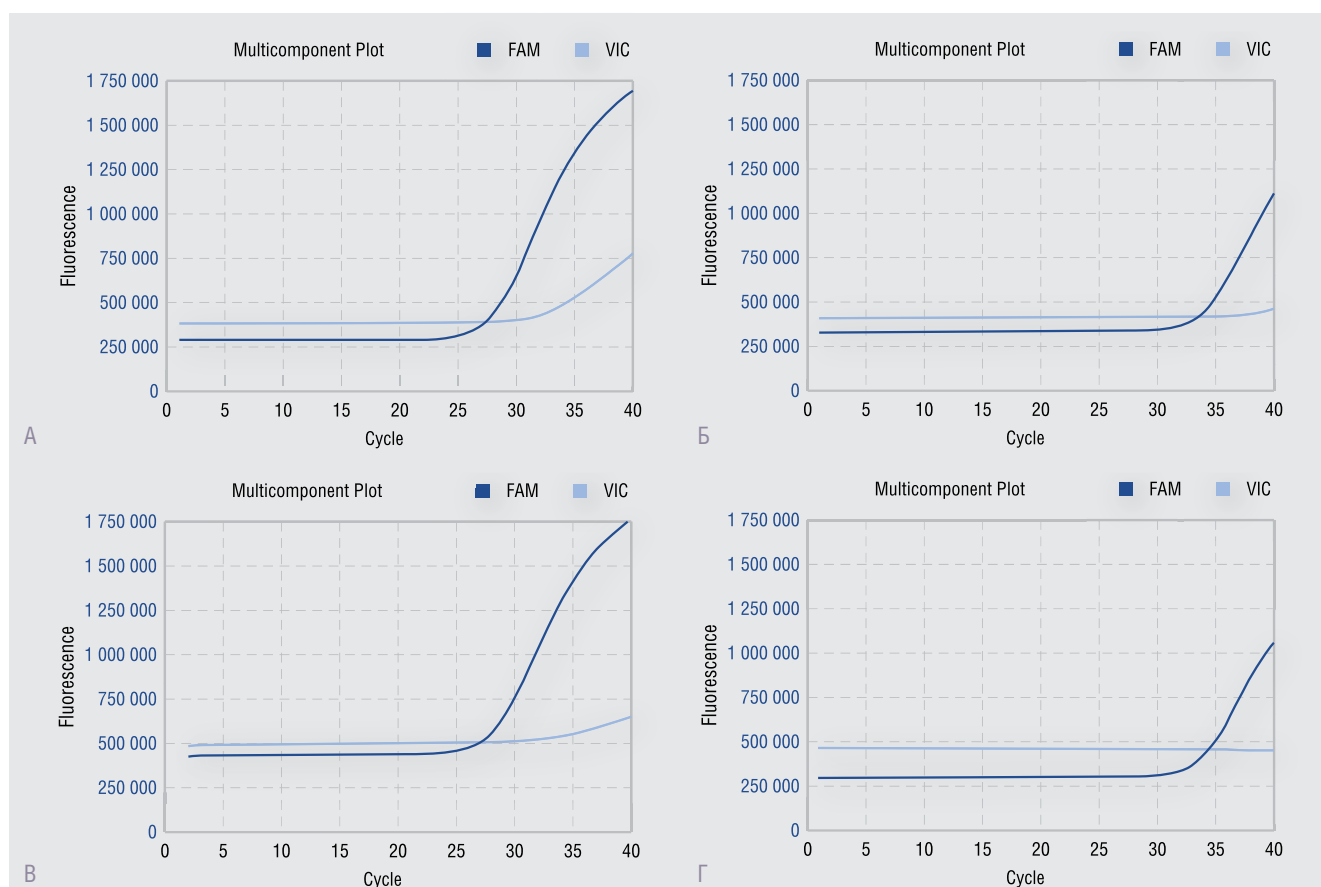


Рис. 1. Графики интенсивности флуоресцентного сигнала в зависимости от количества циклов ПЦР при одновременной амплификации *RLEP* (показаны синим) и участка однокопийного гена (показаны голубым) *Mycobacterium leprae*. Коамплификация *RLEP* и *sodA* (А, Б), коамплификация *RLEP* и *mntH* (В, Г) для разных концентраций (А, В — образец кожного биоптата с высокой концентрацией микобактерий лепры; Б, Г — образец скарификата, содержащий следовые количества микобактерий)
 Fig. 1. Fluorescence signal intensity versus the number of PCR cycles with simultaneous amplification of *RLEP* (shown in blue) and a single-copy gene region (shown in light blue) of *M. leprae*. Co-amplification of *RLEP* and *sodA* (A, B); co-amplification of *RLEP* and *mntH* (B, G) for various concentrations (A, B — skin biopsy sample with a high concentration of *M. leprae*; Б, Г — scarification sample containing trace amounts of the mycobacteria)

программным обеспечением прибора StepOne5 и косвенно характеризующий интенсивность амплификации анализируемого геномного участка (табл. 2).

На основе полученного результата констатировано значительное уменьшение количества циклов амплификации, необходимых для достижения порогового уровня флуоресценции с использованием праймеров и зонда к повторяющемуся участку генома *RLEP*, в сравнении с однокопийными генами. При этом, несмотря на более высокий абсолютный уровень порогового уровня флуоресценции для пробы с *RLEP*, определенные значения *Ct* находились в диапазоне 24,3–31,3, что на 6–10 циклов превышало аналогичные значения в пробах с *rpoB*, *sodA* и *mntH*. Объяснением данного факта, как и максимальной интенсивности достигаемого сигнала флуоресценции в пробах к *RLEP*, должна служить высокая копияность определяемого участка генома, в каждой клетке *M. leprae* предоставляющего множественные сайты для отжига праймеров и гидролизующих зондов. Одновременно следует отметить, что системы амплификации однокопийных генов также выявили наличие ДНК *M. leprae* во всех «положительных» образцах (за исключением амплификации однокопийного гена *sodA* в образце № 4). При этом сопоставление значений *Ct* однокопийных генов указывает на приблизительно равную интенсивность амплификации генов *sodA* и *mntH*, вне зависимости от концентрации ДНК в анализируемых пробах. На этом фоне чувствительность РТ-ПЦР при использовании коммерческого набора Leprosy Genesiq Standart kit (Genesiq, Великобритания), использующего праймеры и зонд к гену *rpoB*, оказалась самой низкой даже при сравнении с пробой на *mntH*, имеющей тот же уровень пороговой флуоресценции.

Другим важным наблюдением является существенный разброс значений *Ct*, определенных в клинических образцах с вероятно различной бактериальной обсемененностью: высокой (№ 9, биоптат) и низкой (№ 4 и 8, скарификаты). Тем самым полученные результаты указывают на перспективу коампликации участков генома *M. leprae* с разной степенью копияности в ка-

честве полуколичественного теста на бактериальную обсемененность, в нашем предыдущем исследовании [14] подтвержденную результатами определения бактериоскопического индекса (БИН), а в настоящей работе иллюстрируемую данными калибровки накопления флуоресцентного сигнала (табл. 3). Так, при построении стандартных графиков калибровки накопления флуоресцентного сигнала к одновременно анализируемым участкам генома *M. leprae* в разведениях от 1 до 1000, с одной стороны, продемонстрированы четкие различия результатов коампликации в зависимости от количественного присутствия детектируемой ДНК (угол наклона графика), а с другой — очень высокая степень сопряжения между ними, характеризующая значениями параметра R^2 от 0,966 до 1,0, обосновывающая возможность одновременного анализа одно- и многокопийных участков генома *M. leprae* в широком диапазоне тестируемых концентраций (а значит, и при значительных вариациях бактериальной обсемененности).

Принимая во внимание нестабильную амплификацию однокопийного гена *sodA* и низкую чувствительность теста на *rpoB*, лучшим выбором представляется система *RLEP-mntH*. При высоких показателях бактериальной обсемененности РТ-ПЦР с ее использованием отражает наличие патогена в виде $Ct < 33$ по двум каналам флуоресценции FAM (*RLEP*) и VIC (*mntH*), при сниженных — как высокий уровень сигнала по каналу FAM и низкий — по каналу VIC ($Ct = 33–36$), а в случае следовых количеств присутствия патогена — только через сигнал по каналу FAM.

Тем самым результаты проведенного исследования продолжают и развивают представления о возможности совершенствования лабораторной диагностики лепры на основе использования мультиплексной ПЦР, в одном исследовании детектирующей несколько фрагментов генома его возбудителя. Примером может служить использование псевдогенов *ML1545*, *ML2180* и *ML2179*, обеспечивающих 75,61 % положительных результатов, а также увеличение процента обнаружения при олигобациллярной лепре с 22,2 до 80,3 % при использовании

Таблица 2. Результаты амплификации (*Ct*) видоспецифичных участков генома *M. leprae* с разной степенью копияности
Table 2. Amplification results (*Ct*) of species-specific sections of the *M. leprae* genome with varying degrees of copy number

№ и характеристика образца клинического материала	Концентрация ДНК в образце, нг/мкл	Анализируемые участки генома			
		<i>RLEP</i>	<i>sodA</i>	<i>mntH</i>	<i>rpoB</i>
4 (скарификат кожи локтя)	26,5	31,3	>40	35	38
8 (скарификат кожи ягодицы)	12	29,4	35,2	35	36
9 (кожный биоптат колена)	125,5	24,3	30,22	31	34
Пороговый уровень флуоресценции		14356	8957	5222	5183

Таблица 3. Характеристики графиков стандартных разведений (от 1 до 1000) при коампликации участков генома *M. leprae* с разной степенью копияности
Table 3. Characteristics of the plots standard dilutions (from 1 to 1,000) during co-amplification of *M. leprae* genome sections with varying degrees of copy number

Коамплифицируемые фрагменты генома <i>M. leprae</i>	Канал детекции	Угол наклона графика	Значение параметра R^2	Эффективность
RLEP/sodA	<i>RLEP</i> /FAM	–3,34	0,998	99,5
	<i>sodA</i> /VIC	–3,58	0,966	90,2
RLEP/mntH	<i>RLEP</i> /FAM	–3,2	1	105,6
	<i>mntH</i> /VIC	–3,3	1	101,5

других маркеров генома *M. leprae* [17, 18]. В свою очередь, наиболее близкой к нашей разработке является мультиплексная РТ-ПЦР, анализирующая одновременно три участка генома возбудителя лепры: *RLEP*, *16S rRNA* и *sodA* и нацеленная на раннюю диагностику заболевания [11]. В то время как индивидуальный предел детекции очищенной ДНК *Mycobacterium leprae* составил 10^{-8} $\mu\text{г}/\mu\text{л}$ для *RLEP* и 10^{-6} $\mu\text{г}/\mu\text{л}$ для *16S rRNA* и *sodA*, одновременное использование трех участков генома повысило предел детекции до 10^{-9} $\mu\text{г}/\mu\text{л}$, что значитель-

но повышает чувствительность обнаружения патогена (более чем 93 %).

Для окончательных выводов о чувствительности и диапазонах определения бактериальной обсеменности клинического материала с использованием предлагаемой нами и известных из литературы технологий коампликации, а также связи результатов РТ-ПЦР со статусом олиго- или мультибациллярности необходимо проведение дальнейших исследований на расширенной выборке пациентов. ■

Литература/References

- Fischer M. Leprosy — an overview of clinical features, diagnosis, and treatment. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2017;15(8):801–827.
- Ridley D. S., Jopling W. H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1966;34(3):255–273.
- МКБ 10 — Международная классификация болезней 10-го пересмотра. Версия: 2019. [ICD 10 — International Classification of Diseases, 10th edition. Version: 2019. (In Russ.)]. <https://mkb-10.com/index.php?pid=174>
- World Health Organization. Regional Office for South-East Asia, Global Leprosy Programme. Global leprosy strategy 2016–2020: monitoring and evaluation guide accelerating towards a leprosy-free world. New Delhi: WHO Regional Office for South East Asia; 2017. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254907/9789290225492>
- Образцова О. А. Молекулярно-биологические методы исследования в лабораторной диагностике лепры: эпидемиологический анализ, генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2017;6:34–40. [Obraztsova O. A. Molecular biological research methods in laboratory diagnostics of leprosy: Epidemiological analysis, genetic determinants of antimicrobial resistance. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2017;6:34–40. (In Russ.)]
- Cho S. N., Yanagihara D. L., Hunter S. W., Gelber R.H., Brennan P. J. Serological specificity of phenolic glycolipid 1 from *M. leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infect Immun.* 1983;41(3):1077–1083.
- Duthie M. S., Balagon M. F., Maghanoy A., Orcullo F. M., Cang M., Dias R. F. et al. Rapid quantitative serological test for detection of infection with *Mycobacterium leprae*, the causative agent of leprosy. *J Clin Microbiol.* 2014;52(2):613–619.
- Fujiwara T., Hunter S. W., Cho S. N., Aspinall G. O., Brennan P. J. Chemical synthesis and serology of the disaccharides and trisaccharides of phenolic glycolipid antigen from leprosy bacillus and preparation of a disaccharide protein conjugate for serodiagnosis of leprosy. *Infect Immun.* 1984;43(1):245–252.
- Santos A. R., De Miranda A. B., Sarno E. N., Suffys P. N., De-grave W. M. Use of PCR-mediated amplification of *Mycobacterium leprae* DNA in different types of clinical samples for the diagnosis of leprosy. *J Med Microbiol.* 1993;39(4):298–304.
- Martinez A. N., Talhari C., Moraes M. O., Talhari S. PCR-based techniques for leprosy diagnosis. From the laboratory to the clinic. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(4):e2655. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002655
- Pathak V. K., Singh I., Turankar R. P., Lavania M., Ahuja M., Singh V. et al. Utility of multiplex PCR for early diagnosis and household contact surveillance for leprosy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019;95(3):114855. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.06.0078
- Turankar R. P., Pandey S., Lavania M., Singh I., Nigam A., Dar-long J. et al. Comparative evaluation of PCR amplification of *RLEP*, *16S rRNA*, *rpoT* and *SodA* gene targets for detection of *Mycobacterium leprae* DNA from clinical and environmental samples. *Int J Mycobacteriol.* 2015;4(1):54–59.
- Azevedo M. C., Ramuno N. M., Fachin L. R., Tassa M., Rosa P. S., Belone A. F. et al. qPCR detection of *Mycobacterium leprae* in biopsies and slit skin smear of different leprosy clinical forms. *Braz J Infect Dis.* 2017;21(1):71–78. DOI: 10.1016/j.bjid.2016.09.017
- Образцова О. А., Вербенко Д. А., Карамова А. Э., Семенова В. Г., Кубанов А. А., Дерябин Д. Г. Совершенствование ПЦР-диагностики лепры путем амплификации видоспецифичного повторяющегося фрагмента генома *Mycobacterium leprae*. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018;63(8):511–516. [Obraztsova O. A., Verbenko D. A., Karamova A. E., Semenova V. G., Kubanov A. A., Deryabin D. G. Improving the PCR diagnostics of leprosy by amplification of a species-specific repeating fragment of the *Mycobacterium leprae* genome. *Clinical Laboratory Diagnostics.* 2018;63(8):511–516. (In Russ.)]. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-8-511-516
- Woods S. A., Cole S. T. A family of dispersed repeats in *Mycobacterium leprae*. *Mol Microbiol.* 1990;4:1745–1751.
- Martinez A. N., Lahiri R., Pittman T. L., Scollard D., Truman R., Moraes M.O. et al. Molecular determination of *Mycobacterium leprae* viability by use of real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2009;47(7):2124–2130.
- Chaitanya V. S., Cuello L., Das M., Sudharsan A., Ganesan P., Kanmani K. et al. Analysis of a novel multiplex polymerase chain reaction assay as a sensitive tool for the diagnosis of indeterminate and tuberculoid forms of leprosy. *Int J Mycobacteriol.* 2017;6(1):1–8.
- Banerjee S., Sarkar K., Gupta S., Mahapatra P. S., Gupta S., Guha S. et al. Multiplex PCR technique could be an alternative approach for early detection of leprosy among close contacts: a pilot study from India. *BMC Infect Dis.* 2010;10:252.

Информация об авторах

Дмитрий Анатольевич Вербенко* — к.б.н., и. о. заведующего отделом лабораторной диагностики ИППП и дерматозов Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: verbenko@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1104-7694>

Арфеня Эдуардовна Карамова — к.м.н., заведующий отделом дерматологии Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-3805-8489>

Виктория Сергеевна Соломка — д.б.н., заместитель директора по научной работе Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-6841-8599>

Алексей Алексеевич Кубанов — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, и. о. директора Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-7625-0503>

Дмитрий Геннадьевич Дерябин — д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ИППП и дерматозов Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-2495-6694>

Information about the authors

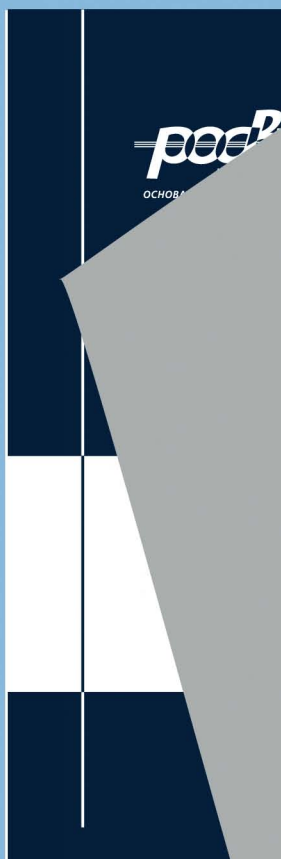
Dmitry A. Verbenko* — Cand. Sci. (Biol.), Acting Head, Department of the Laboratory Diagnostics of STIs and Dermatoses, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: verbenko@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1104-7694>

Arfenya E. Karamova — Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; <https://orcid.org/0000-0003-3805-8489>

Victoria S. Solomka — Dr. Sci. (Biol.), Deputy Director for Research, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; <https://orcid.org/0000-0002-6841-8599>

Alexey A. Kubanov — Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Acting Director, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; <https://orcid.org/0000-0002-7625-0503>

Dmitry G. Deryabin — Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Department of the Laboratory Diagnostics of STIs and Dermatoses, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; <https://orcid.org/0000-0002-2495-6694>



ВЕСТНИК ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ

I полугодие 2020 года

в каталоге агентства
«Роспечать»

«Газеты. Журналы»
во всех отделениях
связи России

Индекс
подписки

72082